UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Genomic Characterization of a Multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae Isolate from a Pediatric
Patient alongside Mechanistic Studies of Pneumococcal Pathogenesis in In Vitro and Ex Vivo Models**
Tiara Putri, Prof. Dr. Budi S. Daryono (UGM) dan Prof. Dr.rer.nat. Sven Hammerschmidt (University of Greifswald)
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ABSTRAK

Streptococcus pneumoniae merupakan salah satu bakteri patogen utama yang menyebabkan berbagai penyakit, dimulai dari kolonisasi nasofaring tanpa gejala hingga infeksi invasif berat. Kemunculan strain *multidrug-resistance* (MDR) serta interaksinya dengan infeksi virus pada saluran pernapasan, menegaskan pentingnya surveilans genomik berkelanjutan dan studi mekanistik patogenesis pneumokokus. Proyek doktoral *cotutelle* yang dilaksanakan di Indonesia dan Jerman ini menggabungkan karakterisasi genomik isolat *S. pneumoniae* MDR yang diperoleh dari pasien anak dengan analisis eksperimental komplementer mengenai interaksi inang–patogen pneumokokus.

Isolat *S. pneumoniae* MDR (GD-BC-10) diperoleh dari spesimen nasofaring seorang pasien berusia 12 tahun dengan infeksi SARS-CoV-2 terkonfirmasi dalam skrining patogen saluran pernapasan di Yogyakarta, Indonesia. Analisis whole genome sequencing mengidentifikasi isolat tersebut sebagai serotipe 19F, *sequence type* ST320 (GPSC1/CC320-271). Analisis genomik mengungkap berbagai determinan utama terhadap resistansi antibiotik, antara lain *erm(B), mef(A), tet(M),* serta mutasi pada *folA, folP, pbp1a, pbp2b, dan pbp2x*, disertai transposon komposit Tn2010 dan berbagai gen terkait virulensi, termasuk *ply, psaA, nanA, nanB, lytA,* serta *pilus islet* 1 dan 2.

Untuk melengkapi data genomik pasien klinis tersebut, penelitian mekanistik dilakukan menggunakan sel epitel bronkial manusia (*16HBE*), sel epitel *HIBCPP,* sel endotel *iHCPEnC*, dan irisan paru-paru mencit (*precision-cut lung slices*/*PCLS).* Pada seluruh model, pneumokokus terutama tetap berada di ruang ekstraseluler, sedangkan ekspresi kapsul memengaruhi perlekatan bakteri dan interaksinya dengan sel inang. Analisis viabilitas sel, *LDH*, *TEER*, permeabilitas *FITC-dekstran*, imunofluoresensi, dan *PCLS* menunjukkan bahwa pneumolisin dan hidrogen peroksida merupakan mediator utama penyebab sitotoksisitas pada sel inang, kerusakan membran epitel, dan asosiasi bakteri dengan jaringan paru-paru.

Sebagai kesimpulan, disertasi ini mengintegrasikan karakterisasi genomik berbasis data pasien klinis dengan model infeksi eksperimental untuk meningkatkan

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Genomic Characterization of a Multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae Isolate from a Pediatric
Patient alongside Mechanistic Studies of Pneumococcal Pathogenesis in In Vitro and Ex Vivo Models**
Tiara Putri, Prof. Dr. Budi S. Daryono (UGM) dan Prof. Dr.rer.nat. Sven Hammerschmidt (University of Greifswald)
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

pemahaman mengenai patogenesis pneumokokus. Komponen penelitian berbasis pasien klinis mengidentifikasi isolat MDR serotipe 19F ST320 (GPSC1/CC320-271) dan menunjukkan keberadaan determinan resistansi dan virulensi yang tersebar secara global. Karena isolat tersebut diperoleh dari spesimen nasofaring, temuan ini sebaiknya diinterpretasikan sebagai bukti deteksi atau kolonisasi pneumokokus, bukan sebagai koinfeksi bakteri aktif. Secara keseluruhan, penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi kapsula, pneumolisin, dan stres oksidatif merupakan determinan utama perlekatan bakteri, sitotoksisitas, dan disfungsi membran epitel, serta memberikan landasan bagi penelitian selanjutnya mengenai resistansi antibiotik dan penyakit pneumokokus berat pada anak.

Kata kunci: *Streptococcus pneumoniae*, *whole genome sequencing*, resistansi *multidrug*, model infeksi eksperimental, interaksi inang–patogen, isolat pediatrik.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Genomic Characterization of a Multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae Isolate from a Pediatric
Patient alongside Mechanistic Studies of Pneumococcal Pathogenesis in In Vitro and Ex Vivo Models**
Tiara Putri, Prof. Dr. Budi S. Daryono (UGM) dan Prof. Dr.rer.nat. Sven Hammerschmidt (University of Greifswald)
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ABSTRACT

Streptococcus pneumoniae remains one of the leading bacterial pathogens worldwide, causing diseases ranging from asymptomatic nasopharyngeal carriage to severe invasive infections. The global emergence of multidrug-resistant (MDR) lineages and their interaction with respiratory viral infections further emphasize the need for continued genomic surveillance and mechanistic studies of pneumococcal pathogenesis. This cotutelle doctoral project, conducted in Indonesia and Germany, combined genomic characterization of a multidrug-resistant *S. pneumoniae* isolate recovered from a pediatric patient with complementary experimental analyses of pneumococcal host–pathogen interactions.

A multidrug-resistant *S. pneumoniae* isolate (GD-BC-10) was recovered from the nasopharyngeal specimen of a 12-year-old patient with confirmed SARS-CoV-2 infection during respiratory pathogen screening in Yogyakarta, Indonesia. Whole-genome sequencing identified the isolate as serotype 19F, sequence type ST320 (GPSC1/CC320-271). Genomic analysis revealed major antimicrobial resistance determinants, including *erm(B), mef(A), tet(M),* and mutations in *folA, folP*, *pbp1a, pbp2b*, and *pbp2x*, together with the composite transposon Tn2010 and multiple virulence-associated genes, including *ply, psaA, nanA, nanB, lytA*, and pilus islets 1 and 2. Phenotypic antimicrobial susceptibility testing confirmed the multidrug-resistant genotype predicted by whole-genome sequencing.

To complement the patient-based genomic findings, mechanistic studies were performed using human bronchial epithelial (16HBE), HIBCPP epithelial, iHCPEnC endothelial cells, and murine precision-cut lung slices (PCLS). Across all models, pneumococci remained predominantly extracellular, while capsule expression influenced bacterial adherence and host-cell interactions. Cell viability, LDH release, TEER, FITC-dextran permeability, immunofluorescence, and PCLS analyses demonstrated that pneumolysin and hydrogen peroxide are the principal mediators of host-cell cytotoxicity, epithelial barrier disruption, and bacterial association with lung tissue.

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Genomic Characterization of a Multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae Isolate from a Pediatric
Patient alongside Mechanistic Studies of Pneumococcal Pathogenesis in In Vitro and Ex Vivo Models**
Tiara Putri, Prof. Dr. Budi S. Daryono (UGM) dan Prof. Dr.rer.nat. Sven Hammerschmidt (University of Greifswald)
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

In conclusion, this dissertation integrates patient-derived genomic characterization with complementary experimental infection models to advance the understanding of pneumococcal pathogenesis. The patient-based component identified a multidrug-resistant serotype 19F ST320 (GPSC1/CC320-271) isolate carrying globally distributed resistance and virulence determinants. Because the isolate was recovered from a nasopharyngeal specimen, the findings should be interpreted as evidence of pneumococcal detection or carriage rather than active bacterial coinfection. Overall, the study demonstrates that capsule expression, pneumolysin, and oxidative stress are key determinants of bacterial adherence, cytotoxicity, and epithelial barrier dysfunction, providing a foundation for future studies on antimicrobial resistance and severe pediatric pneumococcal disease.

Keywords: *Streptococcus pneumoniae,* whole-genome sequencing, multidrug resistance, experimental infection models, host–pathogen interactions, pediatric isolate

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Genomic Characterization of a Multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae Isolate from a Pediatric
Patient alongside Mechanistic Studies of Pneumococcal Pathogenesis in In Vitro and Ex Vivo Models**
Tiara Putri, Prof. Dr. Budi S. Daryono (UGM) dan Prof. Dr.rer.nat. Sven Hammerschmidt (University of Greifswald)
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

ZUSAMMENFASSUNG

Streptococcus pneumoniae zählt weltweit zu den bedeutendsten bakteriellen Krankheitserregern und verursacht Erkrankungen, die von einer asymptomatischen nasopharyngealen Besiedlung bis hin zu schweren invasiven Infektionen reichen. Das weltweite Auftreten multiresistenter (MDR) Klone sowie deren Wechselwirkungen mit viralen Atemwegsinfektionen unterstreichen die Notwendigkeit einer kontinuierlichen genomischen Überwachung und mechanistischen Erforschung der Pneumokokken-Pathogenese. Das vorliegende Cotutelle-Promotionsprojekt, das in Indonesien und Deutschland durchgeführt wurde, kombinierte die genomische Charakterisierung eines multiresistenten *S. pneumoniae*-Isolats aus einem pädiatrischen Patienten mit komplementären experimentellen Untersuchungen zu Wirt-Pathogen-Interaktionen.

Ein multiresistentes *S. pneumoniae*-Isolat (GD-BC-10) wurde aus einem Nasopharyngealabstrich eines 12-jährigen Patienten mit bestätigter SARS-CoV-2-Infektion im Rahmen eines Screenings auf respiratorische Erreger in Yogyakarta, Indonesien, gewonnen. Die Gesamtgenomsequenzierung identifizierte das Isolat als Serotyp 19F und Sequenztyp ST320 (GPSC1/CC320-271). Die genomische Analyse zeigte wesentliche Determinanten der Antibiotikaresistenz, darunter *erm(B), mef(A), tet(M)* sowie Mutationen in *folA, folP, pbp1a, pbp2b* und *pbp2x.* Darüber hinaus wurden das zusammengesetzte Transposon Tn2010 sowie mehrere Virulenz-assoziierte Gene, darunter *ply, psaA, nanA, nanB, lytA sowie die Pilus*-Inseln 1 und 2, identifiziert. Die phänotypische Empfindlichkeitsprüfung bestätigte den durch die Gesamtgenomsequenzierung vorhergesagten multiresistenten Genotyp.

Zur Ergänzung der genomischen Charakterisierung wurden mechanistische Untersuchungen unter Verwendung humaner Bronchialepithelzellen (16HBE), HIBCPP-Epithelzellen, iHCPEnC-Endothelzellen sowie muriner Precision-cut-Lung-Slices (PCLS) durchgeführt. In

UNIVERSITAS
GADJAH MADA
**Genomic Characterization of a Multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae Isolate from a Pediatric
Patient alongside Mechanistic Studies of Pneumococcal Pathogenesis in In Vitro and Ex Vivo Models**
Tiara Putri, Prof. Dr. Budi S. Daryono (UGM) dan Prof. Dr.rer.nat. Sven Hammerschmidt (University of Greifswald)
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/

allen experimentellen Modellen verblieben die Pneumokokken überwiegend extrazellulär, während die Kapselexpression die bakterielle Adhärenz sowie die Interaktion mit Wirtszellen beeinflusste. Analysen der Zellvitalität, LDH-Freisetzung, des transepithelialen elektrischen Widerstands (TEER), der FITC-Dextran-Permeabilität, der Immunfluoreszenz sowie der PCLS zeigten, dass Pneumolysin und Wasserstoffperoxid die wesentlichen Mediatoren der zellulären Zytotoxizität, der Störung der epithelialen Barrierefunktion sowie der bakteriellen Assoziation mit Lungengewebe darstellen.

Zusammenfassend verbindet diese Dissertation die genomische Charakterisierung eines multiresistenten Pneumokokken-Isolats aus einem pädiatrischen Patienten mit komplementären experimentellen Infektionsmodellen, um das Verständnis der Pneumokokken-Pathogenese zu erweitern. Die genomische Charakterisierung identifizierte ein multiresistentes Isolat des Serotyps 19F ST320 (GPSC1/CC320-271), das weltweit verbreitete Resistenz- und Virulenzdeterminanten trägt. Da das Isolat aus einem Nasopharyngealabstrich gewonnen wurde, sollten die Ergebnisse als Nachweis einer pneumokokkalen Besiedlung (Carriage) und nicht als Hinweis auf eine aktive bakterielle Koinfektion interpretiert werden. Insgesamt zeigt die Studie, dass Kapselexpression, Pneumolysin und oxidativer Stress entscheidende Determinanten der bakteriellen Adhärenz, der Zytotoxizität und der Störung der epithelialen Barrierefunktion darstellen und damit eine Grundlage für zukünftige Untersuchungen zur Antibiotikaresistenz und zu schweren pädiatrischen Pneumokokken-Erkrankungen schaffen.

Schlüsselwörter: *Streptococcus pneumoniae,* Gesamtgenomsequenzierung, Multiresistenz, experimentelle Infektionsmodelle, Wirt-Pathogen-Interaktionen, pädiatrisches Isolat

UNIVERSITAS
GADJAH MADA

**Genomic Characterization of a Multidrug-resistant Streptococcus pneumoniae Isolate from a Pediatric
Patient alongside Mechanistic Studies of Pneumococcal Pathogenesis in In Vitro and Ex Vivo Models**
Tiara Putri, Prof. Dr. Budi S. Daryono (UGM) dan Prof. Dr.rer.nat. Sven Hammerschmidt (University of Greifswald)
Universitas Gadjah Mada, 2026 | Diunduh dari http://etd.repository.ugm.ac.id/